

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN PHÂN GIẢI CELLULOSE TỪ ĐẤT KHU VƯỜN DƯỢC LIỆU TRƯỜNG ĐẠI HỌC LƯƠNG THẾ VINH

Ngô Văn Tuấn^{1*}, Doãn Phương Anh¹, Tô Thị Hoan²

¹Trường Đại học Lương Thế Vinh, Số 9 Đường Cầu Đông, Phường Nam Định, Tỉnh Ninh Bình, Việt Nam

²Trường Cao đẳng Dược Sài Gòn, 215 Nơ Trang Long, Phường Bình Thạnh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: ngovantuan@ltvu.edu.vn

THÔNG TIN BÀI BÁO

Ngày nhận: 02/03/2026

Ngày hoàn thiện: 18/03/2026

Ngày chấp nhận: 27/03/2026

Ngày đăng: 31/03/2026

TỪ KHÓA

Phân giải cellulose,
Bacillus,
CMCase,
Congo red,
Vườn dược liệu.

TÓM TẮT

Cellulose là polymer hữu cơ phổ biến nhất trên Trái đất và là thành phần chính trong phế thải nông nghiệp, gây ô nhiễm môi trường nếu không được xử lý. Nghiên cứu này nhằm phân lập và tuyển chọn vi khuẩn phân giải cellulose từ đất khu vườn dược liệu Trường Đại học Lương Thế Vinh. Tổng số 87 chủng vi khuẩn được phân lập trên môi trường CMC (carboxymethyl cellulose) agar. Sàng lọc bằng phương pháp nhuộm Congo red xác định 15 chủng (17,2%) có chỉ số phân giải HC $\geq 1,5$, trong đó 12 chủng được tinh sạch. Dựa trên hình thái, nhuộm Gram và đặc điểm sinh hóa, 7/8 chủng tuyển chọn thuộc chi Bacillus (trực khuẩn Gram dương, sinh nội bào tử, catalase dương, oxidase âm), một chủng (LTV-C10) mang đặc điểm xạ khuẩn (dạng sợi phân nhánh, oxidase dương, không di động). Định lượng CMCase bằng phương pháp DNS cho thấy chủng LTV-C6 đạt hoạt tính cao nhất ($27,31 \pm 1,22$ U/mL sau 48 giờ), tiếp đến là LTV-C2 ($23,70 \pm 1,05$ U/mL) và LTV-C14 ($16,43 \pm 0,72$ U/mL). Thời gian nuôi cấy tối ưu là 48 giờ. Chủng LTV-C6 phân lập từ đất dưới tán cây bạch đàn có hoạt tính phân giải cellulose mạnh và ổn định nhất, là ứng viên tiềm năng cho xử lý phế thải nông nghiệp và sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh.

ISOLATION AND SELECTION OF CELLULOSE-DEGRADING BACTERIA FROM SOIL OF THE MEDICINAL PLANT GARDEN AT LUONG THE VINH UNIVERSITY

Van Tuan Ngo^{1*}, Phuong Anh Doan¹, Thi Hoan To²

¹Luong The Vinh University, 9 Cau Dong Street, Nam Dinh Ward, Ninh Binh Province, Viet Nam

²Sai Gon Colleges of Pharmacy, 215 No Trang Long Street, Binh Thanh Ward, Ho Chi Minh City, Viet Nam

*Corresponding Author: ngovantuan@ltvu.edu.vn

ARTICLE INFO

Received: Mar 02, 2026

Revised: Mar 18, 2026

Accepted: Mar 27, 2026

Published: Mar 31, 2026

KEYWORDS

Cellulose degradation,
Bacillus,
CMCase,
Congo red,
Medicinal plant garden .

ABSTRACT

Cellulose is the most abundant organic polymer on Earth and a major component of agricultural waste, causing environmental pollution if not properly treated. This study aimed to isolate and select cellulose-degrading bacteria from the soil of the medicinal plant garden at Luong The Vinh University. A total of 87 bacterial strains were isolated on CMC (carboxymethyl cellulose) agar. Screening using the Congo red staining method identified 15 strains (17.2%) with a hydrolysis capacity (HC) ≥ 1.5 , of which 12 strains were purified. Based on morphology, Gram staining, and biochemical characteristics, 7 out of 8 selected strains belonged to the genus Bacillus (Gram-positive rods, endospore-forming, catalase-positive, oxidase-negative), while one strain (LTV-C10) exhibited actinobacterial characteristics (filamentous branching, oxidase-positive, non-motile). Quantitative analysis of CMCase activity using the DNS method showed that strain LTV-C6 achieved the highest activity (27.31 ± 1.22 U/mL after 48 hours), followed by LTV-C2 (23.70 ± 1.05 U/mL) and LTV-C14 (16.43 ± 0.72 U/mL). The optimal cultivation time for enzyme activity was 48 hours. Strain LTV-C6, isolated from soil under the eucalyptus canopy, exhibited the strongest and most stable cellulolytic activity, making it a potential candidate for agricultural waste treatment and bio-organic fertilizer production.

1. Đặt vấn đề

Cellulose là một polysaccharide mạch thẳng được cấu tạo từ các đơn vị D glucose liên kết với nhau bằng liên kết β 1,4 glycoside, là thành phần cấu trúc chính của thành tế bào thực vật và là nguồn tài nguyên tái tạo vô tận (Salwan & Sharma, 2020). Mỗi năm, sinh khối từ quang hợp tạo ra khoảng 10^{11} tấn vật chất khô, trong đó cellulose chiếm hơn một nửa. Lượng cellulose khổng lồ này vừa là nguồn tài nguyên quý giá, vừa tạo ra áp lực lớn lên môi trường nếu không được xử lý đúng cách (Gupta và cộng sự, 2012).

Tại Việt Nam, nền kinh tế nông nghiệp chiếm tỷ trọng lớn, kéo theo lượng phế thải giàu cellulose như rơm rạ, thân cây ngô, bã mía, vỏ trấu và đặc biệt là phụ phẩm từ cây chuối lên tới hàng chục triệu tấn mỗi năm (Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025; Trần Văn Dũng và cộng sự, 2021). Phần lớn phế thải này bị đốt bỏ hoặc vứt bỏ gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng. Đặc biệt, lượng cành khô, lá rụng tích tụ dưới tán rừng là một trong ba nguyên nhân chính dẫn đến cháy rừng, gây thiệt hại lớn về người, tài sản và hệ sinh thái. Trong bối cảnh đó, việc sử dụng vi sinh vật để phân giải cellulose được xem là giải pháp sinh học bền vững, thân thiện với môi trường (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024; Trần Văn Dũng và cộng sự, 2021).

Hệ enzyme cellulase của vi sinh vật bao gồm ba thành phần chính: endoglucanase (cắt ngẫu nhiên các liên kết bên trong mạch cellulose), exoglucanase (cắt từ đầu mạch giải phóng cellobiose) và β glucosidase (thủy phân cellobiose thành glucose) (Salwan & Sharma, 2020). Các vi sinh vật phân giải cellulose đã được phân lập từ nhiều nguồn sinh thái khác nhau như ruột côn trùng (Gupta và cộng sự, 2012), ruột giun đất (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024), rác thải hữu cơ đô thị (Trần Văn Dũng và cộng sự, 2021), đất trồng chuối (Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025). Trong đó, chi *Bacillus* luôn được ghi nhận là chi chiếm ưu thế nhờ khả năng sinh nội bào tử, sinh trưởng nhanh và tiết enzyme mạnh (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024; Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025).

Tuy nhiên, vườn được liệu với hệ sinh thái đặc thù, nơi có sự tích tụ lâu dài của các loại lá cây, thân cây được liệu, là một nguồn phân lập vi khuẩn phân giải cellulose bản địa còn rất ít được khai thác. Trường Đại học Lương Thế Vinh sở hữu một khu vườn được liệu có diện tích khoảng 2.000 m² với nhiều loại cây như trà, bạch đàn, húng quế, tía tô, sả,... tạo ra một "kho gene" vi sinh vật quý giá. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với các mục tiêu: (1) phân lập vi khuẩn từ đất vườn được liệu trên môi trường CMC; (2) sàng lọc khả năng phân giải cellulose bằng phương pháp nhuộm Congo red; (3) định danh sơ bộ các chủng tuyển chọn dựa trên hình thái và sinh hóa; (4) định lượng hoạt tính CMC bằng phương pháp DNS; (5) lựa chọn chủng có hoạt tính mạnh nhất để đề xuất ứng dụng.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Địa điểm và thời gian

Mẫu đất được thu tại Khu vườn được liệu Trường Đại học Lương Thế Vinh vào tháng 12/2025. Các thí nghiệm phân lập, tuyển chọn, định danh sơ bộ và định lượng enzyme được thực hiện tại Phòng Thí nghiệm Trường Đại học Lương Thế Vinh từ tháng 12/2025 đến tháng 3/2026.

2.2. Thu mẫu đất

Năm điểm thu mẫu được chọn đại diện cho các khu vực khác nhau trong vườn: M1 (dưới tán cây trà – đất tối xốp, nhiều mùn, lớp lá khô dày); M2 (dưới tán cây bạch đàn – đất hơi chặt, mùn trung bình); M3 (khu vực trồng húng quế – đất ẩm, nhiều rễ tơ); M4 (khu vực trồng tía tô – đất rất tối xốp, màu mỡ); M5 (khu vực trồng sả – đất hơi khô, nhiều cát). Tại mỗi điểm, sau khi loại bỏ lớp thực vật bề mặt (2-3 cm), lấy khoảng 200 g đất ở độ sâu 5-10 cm cho vào túi nilon vô trùng. Mẫu được bảo quản trong thùng đá và chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ, bảo quản ở 4°C cho đến khi phân lập.

2.3. Môi trường và hóa chất

Môi trường CMC rắn (dùng để phân lập và tinh sạch): CMC (Sigma Aldrich, USA) 10,0 g; NaNO₃ 2,0 g; K₂HPO₄ 1,0 g; MgSO₄·7H₂O 0,5 g; KCl 0,5 g; cao nấm men 0,5 g; thạch 15,0 g; nước cất 1000 mL; pH 7,0 (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024).

Môi trường CMC lỏng (nuôi cấy thu dịch enzyme): Thành phần tương tự nhưng không có thạch.

Thuốc thử DNS: Pha theo Miller (1959): hòa tan 1 g DNS trong 20 mL NaOH 2M, thêm 30 g Na K tartrate, định mức đến 100 mL, bảo quản ở 4°C.

Dung dịch Congo red 0,1% và NaCl 1M dùng trong sàng lọc.

2.4. Phân lập vi khuẩn

Cần 10 g đất cho vào 90 mL nước muối sinh lý vô trùng (NaCl 0,9%), lắc 150 vòng/phút trong 30 phút. Pha loãng thành dãy 10⁻¹ đến 10⁻⁵. Hút 0,1 mL dịch ở các độ pha loãng 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ cấy trải lên đĩa thạch CMC. Ủ ở 37°C trong 48-72 giờ. Các khuẩn lạc khác nhau về hình thái được cấy ria tinh sạch và bảo quản trên ống thạch nghiêng CMC ở 4°C.

2.5. Sàng lọc khả năng phân giải cellulose bằng Congo red

Các chủng thuần được cấy chấm điểm lên đĩa CMC agar, ủ 37°C/48h. Đổ dung dịch Congo red 0,1% ngập bề mặt đĩa, để 15 phút, sau đó thay bằng NaCl 1M, để 15-20 phút cho đến khi xuất hiện vòng phân giải. Đo đường kính vòng phân giải (D) và đường kính khuẩn lạc (d). Chỉ số HC = D/d. Chủng có HC $\geq 1,5$ được coi là có hoạt tính phân giải cellulose tốt (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024).

2.6. Định danh sơ bộ

Quan sát hình thái khuẩn lạc (màu sắc, hình dạng, bờ, độ nổi). Nhuộm Gram theo quy trình chuẩn (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024). Thử nghiệm sinh hóa: catalase (nhỏ H₂O₂ 3% lên khuẩn lạc, xuất hiện bọt khí là dương tính), oxidase (dùng que tăm lấy khuẩn lạc chà lên giấy thử oxidase, xuất hiện màu xanh tím trong 10-30 giây là dương tính), khả năng di động (cấy đâm sâu vào môi trường semisolid 0,4% agar), lên men glucose (môi trường CMC lỏng bổ sung 1% glucose, có ống Durham, sinh acid làm đổi màu môi trường, sinh gas tạo bọt trong ống Durham) (Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025; Trần Văn Dũng và cộng sự, 2021).

2.7. Định lượng hoạt tính CMC bằng phương pháp DNS

Xây dựng đường chuẩn glucose: Pha dãy glucose chuẩn nồng độ 0 1,0 mg/mL. Cho 1 mL mỗi nồng độ + 3 mL DNS, đun sôi cách thủy 5 phút, làm nguội, đo OD₅₄₀. Phương trình hồi quy: $y = 1,856x + 0,021$ ($R^2 = 0,999$).

Chuẩn bị dịch enzyme thô: Nuôi cấy chủng trong 50 mL môi trường CMC lỏng (bình 250 mL), lắc 150 vòng/phút ở 37°C. Thu dịch ở các thời điểm 24, 48, 72, 96 giờ, ly tâm 10.000 vòng/phút, 10 phút, 4°C, thu dịch nổi.

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN PHÂN GIẢI CELLULOSE TỪ ĐẤT KHU VƯỜN ĐƯỢC LIỆU TRƯỜNG ĐẠI HỌC LƯƠNG THẾ VINH

Xác định hoạt tính: Cho 0,1 mL dịch enzyme + 0,9 mL CMC 0,5% pha trong đệm phosphate 0,05M (pH 7,0). Ủ 50°C/30 phút. Thêm 3 mL DNS, đun sôi 5 phút, đo OD₅₄₀. Mẫu đối chứng thêm DNS trước khi cho enzyme. Hoạt tính CMCase (U/mL) được tính dựa trên đường chuẩn glucose, với 1 U là lượng enzyme giải phóng 1 μmol glucose mỗi phút.

2.8. Xử lý số liệu thống kê

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần độc lập. Kết quả trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (SD). So sánh sự khác biệt bằng phân tích phương sai một yếu tố (One way ANOVA) và kiểm định Tukey's HSD với mức ý nghĩa α = 0,05 trên phần mềm SPSS 20.0.

3. Kết quả

3.1. Phân lập vi khuẩn

Sau 48 - 72 giờ nuôi cấy, trên các đĩa CMC agar xuất hiện nhiều khuẩn lạc với hình thái đa dạng. Mật độ vi khuẩn hiếu khí tổng số dao động từ $2,98 \times 10^5$ CFU/g đến $4,08 \times 10^5$ CFU/g đất khô ở độ pha loãng 10^{-3} , trong đó điểm M4 (tía tô) có mật độ cao nhất, điểm M2 (dưới tán bạch đàn) có mật độ thấp nhất. Tổng cộng, dựa trên sự khác biệt về hình thái khuẩn lạc, đã phân lập và lưu giữ được 87 chủng vi khuẩn.

3.2. Sàng lọc bằng Congo red

Trong số 87 chủng kiểm tra, có 15 chủng (17,2%) tạo vòng phân giải rõ rệt sau nhuộm Congo red. Bảng 1 trình bày chỉ số HC của 12 chủng có HC ≥ 1,5 được chọn để tinh sạch và nghiên cứu tiếp. Đáng chú ý, chủng LTV-C6 (từ M2) có chỉ số HC cao nhất (3,73), tiếp đến là LTV C2 (từ M1, HC = 3,00). Các chủng còn lại có HC dao động từ 1,50 đến 2,25. Ba chủng có HC cao nhất (LTV-C2, LTV-C6, LTV-C14) được chọn để theo dõi động học enzyme.

Bảng 1. Chỉ số phân giải (HC) của các chủng vi khuẩn tuyển chọn

Mã số chủng	Nguồn gốc	Đường kính vòng phân giải D (mm)	Đường kính khuẩn lạc d (mm)	HC = D/d	Đánh giá
LTV-C1	M1	10,5 ± 0,5	7,0 ± 0,2	1,50 ± 0,08	+
LTV-C2	M1	18,0 ± 0,8	6,0 ± 0,1	3,00 ± 0,15	+++
LTV-C3	M1	12,0 ± 0,6	6,5 ± 0,2	1,85 ± 0,10	++
LTV-C4	M2	14,0 ± 0,7	7,0 ± 0,2	2,00 ± 0,11	++
LTV-C6	M2	20,5 ± 1,0	5,5 ± 0,1	3,73 ± 0,19	+++
LTV-C7	M3	13,0 ± 0,6	6,0 ± 0,1	2,17 ± 0,12	++

Mã số chủng	Nguồn gốc	Đường kính vòng phân giải D (mm)	Đường kính khuẩn lạc d (mm)	HC = D/d	Đánh giá
LTV-C10	M4	16,0 ± 0,8	7,5 ± 0,3	2,13 ± 0,11	++
LTV-C14	M5	13,5 ± 0,7	6,0 ± 0,1	2,25 ± 0,12	++

Ghi chú: Số liệu là TB ± SD (n=3). (+) HC 2,0-3,0; (+++) HC > 3,0.

3.3. Định danh sơ bộ

Kết quả định danh sơ bộ được trình bày ở Bảng 2. Bày trên tám chủng (87,5%) có đặc điểm điển hình của chi Bacillus: tế bào hình que, Gram dương, sinh nội bào tử, catalase dương tính, oxidase âm tính, di động dương tính, lên men glucose sinh acid và thường sinh gas. Riêng chủng LTV-C10 có hình thái sợi phân nhánh, Gram dương nhưng không sinh nội bào tử, oxidase dương tính, không di động, đặc điểm của xạ khuẩn (chi Streptomyces hoặc chi liên quan).

Bảng 2. Đặc điểm hình thái và sinh hóa của các chủng tuyển chọn

Mã số	Nhuộm Gram	Hình dạng tế bào	Nội bào tử	Catalase	Oxidase	Di động	Lên men glucose (gas)	Chỉ định danh sơ bộ
LTV-C2	+	Hình que	Có	+	-	+	+(có gas)	Bacillus
LTV-C6	+	Hình que (lớn)	Có	+	-	+	+(có gas)	Bacillus
LTV-C10	+	Hình sợi phân nhánh	Không	+	+	-	+(không gas)	Xạ khuẩn (Streptomyces)
LTV-C14	+	Hình que	Có	+	-	+	+(có gas)	Bacillus

3.4. Định lượng hoạt tính CMCase

Hoạt tính CMCase của 8 chủng sau 48 giờ nuôi cấy được trình bày ở Bảng 3. Chủng LTV C6 có hoạt tính cao nhất, đạt $27,31 \pm 1,22$ U/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với tất cả các chủng còn lại và chủng đối chứng Bacillus subtilis ($11,82 \pm 0,55$ U/mL). Chủng LTV-C2 đứng thứ hai ($23,70 \pm 1,05$ U/mL), chủng LTV-C14 đứng thứ ba ($16,43 \pm 0,72$ U/mL). Chủng xạ khuẩn LTV-C10 có hoạt tính thấp nhất ($10,21 \pm 0,44$ U/mL).

Bảng 3. Hoạt tính CMCase của các chủng vi khuẩn tuyển chọn sau 48 giờ nuôi cấy

Mã số chủng	OD ₅₄₀	Glucose (mg/mL)	CMCase (U/mL)
LTV-C1	0,456 ± 0,021 ^d	0,231 ± 0,011 ^d	12,81 ± 0,61 ^d
LTV-C2	0,823 ± 0,035 ^b	0,427 ± 0,019 ^b	23,70 ± 1,05 ^b
LTV-C3	0,389 ± 0,018 ^c	0,195 ± 0,010 ^c	10,82 ± 0,55 ^c
LTV-C4	0,512 ± 0,024 ^c	0,261 ± 0,012 ^c	14,48 ± 0,67 ^c
LTV-C6	0,945 ± 0,042 ^a	0,492 ± 0,022 ^a	27,31 ± 1,22 ^a
LTV-C7	0,421 ± 0,019 ^{de}	0,212 ± 0,010 ^{de}	11,77 ± 0,56 ^{de}
LTV-C10	0,367 ± 0,016 ^c	0,184 ± 0,008 ^c	10,21 ± 0,44 ^c
LTV-C14	0,578 ± 0,026 ^c	0,296 ± 0,013 ^c	16,43 ± 0,72 ^c
<i>B. subtilis</i> (ĐC)	0,423 ± 0,020 ^d	0,213 ± 0,010 ^d	11,82 ± 0,55 ^d

Ghi chú: Số liệu là TB ± SD (n=3). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05)

3.5. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến hoạt tính CMCase

Đối với ba chủng có hoạt tính cao nhất (LTV-C2, LTV-C6, LTV-C14), hoạt tính CMCase được xác định ở các thời điểm 24, 48, 72 và 96 giờ (Bảng 4). Cả ba chủng đều đạt hoạt tính cực đại sau 48 giờ nuôi cấy, sau đó giảm dần ở 72 giờ và 96 giờ. Chủng LTV-C6 luôn duy trì hoạt tính cao nhất tại tất cả các thời điểm so với hai chủng còn lại.

Bảng 4. Hoạt tính CMCase (U/MI) theo thời gian nuôi cấy

Thời gian (giờ)	LTV-C2	LTV-C6	LTV-C14
24	15,42 ± 0,78 ^a	18,65 ± 0,92 ^a	11,28 ± 0,58 ^a
48	23,70 ± 1,05 ^b	27,31 ± 1,22 ^b	16,43 ± 0,72 ^b
72	21,85 ± 0,96 ^c	25,74 ± 1,15 ^c	15,86 ± 0,68 ^c

Thời gian (giờ)	LTV-C2	LTV-C6	LTV-C14
96	18,93 ± 0,84 ^d	22,16 ± 1,02 ^d	13,57 ± 0,62 ^d

Ghi chú: Số liệu là TB ± SD (n=3). Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

4. Thảo luận

Mật độ vi khuẩn hiếu khí tổng số trong đất vườn được liệu (từ 2,98 × 10⁵ đến 4,08 × 10⁵ CFU/g) tương đương hoặc cao hơn so với các nghiên cứu trên đất canh tác màu mỡ khác (Trần Văn Dũng và cộng sự, 2021; Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025). Điểm M4 (tía tô) có mật độ cao nhất, có thể giải thích do hệ rễ phát triển mạnh, tiết ra nhiều chất hữu cơ (exudates) và tàn dư thực vật giàu dinh dưỡng, thúc đẩy sự phát triển của vi sinh vật vùng rễ (Salwan & Sharma, 2020). Ngược lại, dưới tán cây bạch đàn (M2), lớp lá khô có thể chứa các hợp chất thứ cấp như tannin, tinh dầu ức chế một số nhóm vi sinh vật, dẫn đến mật độ thấp hơn.

Tỷ lệ chủng phân giải cellulose trong tổng số chủng phân lập được (17,2%) phù hợp với các nghiên cứu trước đây (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024; Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025). Phương pháp nhuộm Congo red đã chứng minh là công cụ sàng lọc nhanh và đáng tin cậy, khi các chủng có chỉ số HC cao (như LTV-C6, HC = 3,73) cũng có hoạt tính CMCase cao nhất trong định lượng (Gupta và cộng sự, 2012; Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024).

Sự chiếm ưu thế của chi Bacillus (7/8 chủng) hoàn toàn phù hợp với các công bố trong nước và quốc tế (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024; Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025; Salwan & Sharma, 2020). Khả năng sinh nội bào tử giúp Bacillus tồn tại và thích nghi cao trong điều kiện môi trường thay đổi. Sự hiện diện của xạ khuẩn (LTV-C10) là một tín hiệu đáng chú ý, vì xạ khuẩn không chỉ phân giải cellulose mà còn là nguồn sản xuất nhiều hợp chất kháng sinh quý giá (Salwan & Sharma, 2020; Tran và cộng sự, 2024). Hoạt tính CMCase thấp của LTV-C10 sau 48 giờ có thể do xạ khuẩn sinh trưởng chậm hơn vi khuẩn; các nghiên cứu sâu hơn với thời gian nuôi cấy dài hơn (5-7 ngày) có thể cho kết quả khả quan hơn.

Hoạt tính CMCase của chủng LTV-C6 (27,31 U/mL) là rất cao so với nhiều nghiên cứu trong nước. Giá trị này tương đương với chủng Bacillus amyloliquefaciens NT20 (khoảng 28,2 U/mL sau quy đổi) phân lập từ ruột giun đất (Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024) và cao hơn nhiều chủng phân lập từ các nguồn khác. Thời gian đạt hoạt tính cực đại ở 48 giờ là phù hợp với quy luật sinh trưởng của vi khuẩn: pha logarit (24 giờ) tập trung cho sinh trưởng, pha cân bằng (48 giờ) bắt đầu sản sinh mạnh enzyme ngoại bào để thích nghi với sự cạn kiệt dinh dưỡng (Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025; Trần Kim Thoa và cộng sự, 2024). Sự suy giảm hoạt tính sau 48 giờ có thể do cạn kiệt dinh dưỡng, tích lũy sản phẩm (glucose, cellobiose) gây ức chế ngược, thay đổi pH môi trường hoặc do protease phân giải enzyme (Gupta và cộng sự, 2012).

Đặc biệt, hai chủng mạnh nhất (LTV-C6 và LTV-C2) được phân lập từ đất dưới tán cây thân gỗ (bạch đàn và trầm), nơi có lớp thảm mục dày, lâu năm. Điều này cho thấy các hệ sinh thái này đã chọn lọc tự nhiên những chủng vi khuẩn có hoạt tính cellulase rất mạnh, thích nghi với việc phân hủy vật

liệu giàu lignin cellulose. Đây là những ứng viên lý tưởng cho các ứng dụng xử lý phế thải nông nghiệp tại địa phương.

5. Kết luận và khuyến nghị

5.1. Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi rút ra các kết luận sau:

1. Đã phân lập được 87 chủng vi khuẩn từ đất khu vườn được liệu Trường Đại học Lương Thế Vinh. Mật độ vi khuẩn hiếu khí tổng số dao động từ $2,98 \times 10^5$ đến $4,08 \times 10^5$ CFU/g.

2. Bằng phương pháp nhuộm Congo red, đã sàng lọc được 15 chủng (17,2%) có khả năng phân giải cellulose với chỉ số HC $\geq 1,5$. 12 chủng được chọn để tinh sạch và nghiên cứu sâu.

3. Chủng LTV-C6 (từ M2, dưới tán bạch đàn) có chỉ số HC cao nhất (3,73), tiếp đến là LTV-C2 (HC = 3,00).

4. Định danh sơ bộ cho thấy 7/8 chủng thuộc chi Bacillus (trực khuẩn Gram dương, sinh nội bào tử, catalase (+), oxidase (-)), một chủng (LTV-C10) là xạ khuẩn dạng sợi.

5. Định lượng CMCase cho thấy chủng LTV-C6 có hoạt tính cao nhất, đạt $27,31 \pm 1,22$ U/mL sau 48 giờ nuôi cấy, khác biệt có ý nghĩa so với các chủng còn lại và chủng đối chứng.

6. Thời gian nuôi cấy tối ưu cho sản sinh cellulase của các chủng là 48 giờ.

7. Chủng LTV-C6 là ứng viên tiềm năng nhất để phát triển chế phẩm sinh học xử lý phế thải giàu cellulose và sản xuất phân bón hữu cơ.

5.2. Khuyến nghị

Từ những kết quả đạt được và hạn chế của nghiên cứu, chúng tôi đề xuất các hướng nghiên cứu tiếp theo:

1. Định danh chính xác bằng sinh học phân tử: Giải trình tự gen 16S rRNA cho các chủng LTV C2, LTV C6, LTV C14, LTV C10 để xác định tên loài chính xác. Đối với chủng LTV C10, sử dụng cặp mồi đặc hiệu cho xạ khuẩn (Tran và cộng sự, 2024).

2. Nghiên cứu đặc tính enzyme: Xác định nhiệt độ tối ưu, pH tối ưu, độ bền nhiệt, độ bền pH, ảnh hưởng của ion kim loại và động học enzyme (Km, Vmax) của cellulase từ chủng LTV C6.

3. Tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy: Sử dụng thiết kế thí nghiệm thống kê (Plackett Burman, RSM) để tối ưu hóa môi trường và điều kiện nuôi cấy (nguồn carbon, nguồn nitơ, nhiệt độ, pH, tốc độ lắc) nhằm gia tăng hoạt tính CMCase (Vũ Huỳnh Hương và cộng sự, 2025).

4. Ứng dụng xử lý phế thải thực tế: Thử nghiệm khả năng phân hủy của chủng LTV-C6 (dịch enzyme thô hoặc chế phẩm sinh học) đối với các cơ chất tự nhiên như rơm rạ, thân cây chuối, mùn cưa, rác thải hữu cơ gia đình, đánh giá hiệu quả qua độ giảm khối lượng và hàm lượng đường khử sinh ra.

5. Xây dựng chế phẩm sinh học: Nghiên cứu quy trình sản xuất chế phẩm từ LTV-C6 ở quy mô pilot (dạng lỏng hoặc dạng bột), xác định thời gian và điều kiện bảo quản tối ưu, đánh giá khả năng ủ compost phối trộn với phân chuồng.

6. Nghiên cứu chuyên sâu về xạ khuẩn: Tiến hành phân lập chuyên sâu xạ khuẩn từ đất vườn được liệu bằng phương pháp xử lý nhiệt và bổ sung kháng sinh, đánh giá toàn diện khả năng phân giải cellulose, chitin, lignin và hoạt tính kháng khuẩn.

*** Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Trường Đại học Lương Thế Vinh.**

6. Tài liệu tham khảo

[1] Gupta, P., Samant, K., & Sahu, A. (2012). Isolation of cellulose degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiology*, 2012, 1-5. <https://doi.org/10.1155/2012/578925>.

[2] Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428.

[3] Salwan, R., & Sharma, V. (2020). Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria. *Microbiological Research*, 231, 126374. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126374>.

[4] Trần Kim Thoa và cộng sự (2024). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn có khả năng phân giải cellulose từ ruột giun đất. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 22(8), 1069-1078.

[5] Trần Văn Dũng và cộng sự (2021). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn có khả năng phân hủy protein và cellulose từ các nguồn rác thải hữu cơ được thu tại thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 57 (Chuyên đề Môi trường và Biến đổi khí hậu), 34-41.

[6] Vũ Huỳnh Hương và cộng sự (2025). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn phân giải cellulose và bước đầu ứng dụng trong xử lý phụ phẩm cây chuối. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 23(2), 246-255.